Münster 1937 No 37 Med DiSS

Aus dem Pharmakologischen Institut
der Westfälischen Wilhelms-Universität, Münster (Westf.)

Zur pharmakologischen Wirkung von Muskelextrakten.

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät der Westfälischen
Wilhelms-Universität, Münster (Westf.)

vorgelegt von

Wolfgang Erdmann
aus Witten (Ruhr).

1936

Gedruckt bei H. F. Höing in Münster (Westf.)

Dekan: Prof. Dr. Jötten.

Referent: Privatdozent Dr. med. et phil. W. Haarmann.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster (Westf.)

Zur pharmakologischen Wirkung von Muskelextrakten.

Seitdem Embden[1]) und seine Schule nachgewiesen haben, daß bei der Muskeltätigkeit Adenylsäure frei wird, hat sich die Forschung nach verschiedenen Richtungen hin mit diesem Stoffe befaßt. Drury und Szent Györgyi[2]) stellten fest, daß sie capillarerweiternd und coronarerweiternd und daß sie wie andere Stoffe von Capillargiftcharakter zunächst den Blutdruck für kurze Zeit senkt, und dann, nachdem der Blutdruck zur Norm zurückgekehrt ist, die peripheren Gefäße erweitert — wohl im Zusammenhang mit einer veränderten Blutverteilung. Damit war die bisher pharmakologisch zusammengefaßte Gruppe der histaminähnlich wirkenden Substanzen, in der bisher außer dem Histamin selbst noch das Cholin und seine Ester chemisch definiert waren, um eine weitere, wohl umschriebene chemische Gruppe bereichert, nämlich die aus den Nucleoproteiden und der Nucleinsäure abspaltbaren Nucleotide und Nucleoside, — der Adenylsäure und dem Adenosin und der Guanylsäure und dem Guanosin. Die physiologische Bedeutung namentlich der Adenylsäure liegt zunächst in ihrer örtlichen Wirkung auf die Capillaren des Muskels: sie bewirkt wohl in allererster Linie die Arbeitshyperämie in der Muskulatur. Neben dieser kreislaufsregulierenden physiologischen Funktion steht ihre Bedeutung als Produkt des Zellzerfalls. Die beim Zellzerfall entstehenden pharmakologisch wirksamen Substanzen sind zuerst von Freund[3]) am Beispiel des defibrinierten Blutes und des Blutplättchenzerfalls nachgewiesen worden. Er zeigte, daß bei der Gerinnung das Blut starke Wirksamkeit bekommt, die bei längerem Stehen ihre Richtung verändert. Er bezeichnete die Wirkung frisch defibrinierten Blutes als „Frühgiftwirkung", die vergänglich war und von einer anders gerichteten Wirksamkeit abgelöst wurde („Spätgiftwirkung"). In beiden Fällen waren die Angriffspunkte vorwiegend die vegetativ innervierten Organe, und da Freund[4]) der Nachweis ge-

---

[1]) Embden: Kongreßber. d. deutschen Gesellsch. f. innere Med. 1932, S. 50.
[2]) Drury u. Szent Györgyi: Journ. of physiol. so 68, 8, 213, (1929/30).
[3]) Freund: Med. Kl. 1920, Nr. 17; Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 1920, Bd. 86, S. 266 u. Bd. 88, S. 39.
[4]) Derselbe: Studien zur unspezifischen Reiztherapie, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. Bd. 91, 1921, S. 272 u. Bd. 93, 1922, S. 92; Deutsch. med. Wo. 1926, Nr. 52.

lang, daß die gleichen Stoffe, die er zuerst bei der Blutgerinnung gefunden hatte, unter pathologischen Bedingungen — vor allem nach den zur unspezifischen Reiztherapie zu rechnenden Einwirkungen — auch im strömenden Blute kreisen, bezeichnete er sie als „Zellzerfallshormone". Zipf und Wagenfeld[5]) erbrachten den Nachweis, daß der Träger der kollapsmachenden Frühgiftwirkung die Adenylsäure ist. Damit war zugleich die Vergänglichkeit dieser Wirkung erklärt, da die Adenylsäure durch ein im Blute vorhandenes spezifisches Ferment abgebaut wird. Auch die Identität der bei der unspezifischen Reiztherapie entstehenden Stoffe mit Adenylsäure wurde durch Zipf und seinen Mitarbeitern[6]) erbracht.

Inzwischen waren einige zunächst aus dem Herzmuskel und der Muskulatur hergestellte Präparate von Capillargiftwirkung in die Therapie eingeführt worden, so das Hormocardiol (auf Grund der Haberland'schen Vorstellungen von einem „Herzhormon"), ferner nachdem sich herausgestellt hatte, daß die gleiche Wirkung auch mit Präparaten aus quergestreifter Muskulatur erzielt werden kann, das Lacarnol (Höchst) und das Myoston (Schwarzmann). Rigler und Schaumann[7]) und später Zipf[8]) konnten zeigen, daß auch in diesen Präparaten die Adenylsäure der Träger der therapeutischen Wirkung ist.

Die Tatsache, daß jeder Zellzerfall Adenylsäure und vielleicht auch andere Stoffe ähnlicher Wirkung entstehen läßt, führte dann König[9]) zu der Bearbeitung einer klinischen Fragestellung, nämlich der Pathogenese der Operationsfolgen. Die pharmakologische Wirksamkeit der Adenylsäure erstreckt sich auf die Blutdrucksenkung, auf verlangsamte Durchströmung des Lungenkreislaufs (Lungenstauung durch Stoffe von Capillargiftcharakter) und ferner auf eine lähmende Wirkung auf die Darmperistaltik. Diese postoperativen Symptome würden also verständlich sein unter der Annahme, daß bei jedem größeren Eingriff allein schon durch die Abbindungen und die Naht mehr oder weniger große Gewebsteile, vor allem Muskulatur, zum Zerfall kommen. König konnte zeigen, daß Muskelpreßsaft in frischem Zustande Erscheinungen macht, die dem Frühgift des defibrinierten Blutes entsprechen und daß auch hier nach etwa einer halben Stunde die Wirksamkeit vorübergeht. Entsprechend seiner Fragestellung hat er etwaige spätere Wirkungen nicht mehr untersucht.

---

[5]) Zipf u. Wagenfeld: Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 1930, 150, S. 70, 91 1931, 160, S. 6.

[6]) Zipf u. Mitarbeiter: Kongreßber. d. Deutsch. Gesellsch. f. innere Med. 1932, S. 70.

[7]) Rigler u. Schaumann: Deutsch. Gesellsch. f. inn. Med. 1932, S. 59.

[8]) Zipf: Klin. Wo. 1931, S. 1521 u. 1930, S. 1728.

[9]) König: Klin. Wo. 1930, S. 2060.

Aus den oben dargestellten Beobachtungen ergab sich die Fragestellung der vorliegenden Arbeit. Sie knüpfte zunächst an die Beobachtungen K ö n i g's an, die dahin ergänzt werden sollten, ob ähnlich wie beim defibrinierten Blute nach dem Abklingen der Anfangswirkung etwa anders gerichtete andere Wirkungen in Muskelextrakten auftreten. Dies konnte am besten dadurch geprüft werden, daß durch sofortiges Kochen die fermentative Spaltung der Adenylsäure verhindert wurde, sodaß die Anfangswirkung erhalten blieb; sie konnte dann mit einer Probe des gleichen Extraktes verglichen werden, in dem das Ferment nicht zerstört war. Eine weitere Fragestellung ging dahin, ob außer der Adenylsäure noch andere pharmakologisch wirksame Stoffe mit verschiedenen Extraktionsmethoden aus der Muskulatur gewonnen werden können. In erster Linie war dabei an das Acetylcholin und vielleicht auch an Histamin zu denken, obwohl das letztere wohl nur aus nicht ganz frischem Ausgangsmaterial durch Autolyse oder Fäulnis zu entstehen pflegt. Als Testobjekte für die hauptsächlichsten kennzeichnenden pharmakologischen Wirkungen wurde der Blutdruck, das Froschgefäßpräparat und der überlebende Kaninchendarm verwandt.

Versuchsreihe 1.

Im folgenden wurde die Wirkung von Extrakten geprüft, die aus der Muskulatur möglichst frisch getöteter Tiere durch physiologische Kochsalzlösung gewonnen wurden.

Es kamen Kaninchen- oder Katzen- oder Hunde-Muskel zur Anwendung, die mit etwa der gleichen Menge physiologischer Kochsalzlösung behandelt wurden. Nachdem das Muskelstück, welches möglichst frisch nach dem Tode entnommen und mit der Schere zerkleinert worden war, wurde die Hälfte des zertrümmerten Muskels mit der Kochsalzlösung gekocht und die andere Hälfte des zerkleinerten Muskels wurde mit der entsprechenden Menge Kochsalz ausgelaugt. Jetzt wurden die Muskelteilchen von der Flüssigkeit abfiltriert und der flüssige Rückstand, bestehend aus 0,85%iger Kochsalzlösung und den ausgelaugten Muskelsäften, wurde dann sofort am Blutdruckpräparat, am überlebenden Kaninchendarm und am Froschgefäßpräparat zur Anwendung gebracht.

Im ganzen liegen 14 Versuche vor, in denen zweimal Muskulatur von Hunden, dreimal von Katzen und 9 mal von Kaninchen zur Untersuchung kamen. Die Ergebnisse können zusammenfassend dargestellt werden: die abgekochten Preßsäfte zeigten in allen Fällen das Bild der Adenylsäurewirkung. Sie machten an Katzen und Kaninchen Blutdrucksenkung, sie führten am Trendelenburg'schen Gefäßpräparat

zu einer deutlichen reversiblen Gefäßerweiterung und führten am überlebenden Darmpräparat stets zur Hemmung der Peristaltik. Nur am Darmpräparat zeigten sich insofern Unterschiede, als je nachdem zwischen dem Tode des Tieres und dem Abkochen des Extraktes eine etwas kürzere oder längere Zeit verstrichen war, eine reine hemmende Wirkung in Erscheinung trat oder im zweiten Falle es nach der anfänglichen Hemmung zur Steigerung der Peristaltik kam. Diese letztere Kurvenform entspricht ganz der Wirkung des frisch defibrinierten Blutes nach Freund[10]) und Dittler[11]). Die Wirkung der abgekochten Extrakte blieb im ganzen unverändert bestehen. In einzelnen Fällen nahm die Wirksamkeit in geringem Ausmaße ab, ohne aber zu verschwinden. Ganz anders verhielten sich die nicht abgekochten Extrakte. Hier müssen die Befunde an den einzelnen Testobjekten gesondert betrachtet werden.

Am Blutdruck waren innerhalb der ersten zwei Stunden fast immer Senkungen zu beobachten, die wesentlich geringer waren als diejenigen der entsprechenden Kochextrakte. Bei mehrfacher Wiederholung der Versuche mit den gleichen ungekochten Extrakten trat sehr deutlich der allmähliche Verlust an Wirksamkeit in Erscheinung. Nach 2 bis 24 Stunden waren die Extrakte entweder ganz wirkungslos oder machten ganz geringfügige und unsichere Blutdrucksteigerung.

Am Gefäßpräparat gelang es nur in einem Falle (20 Minuten nach dem Tode des Tieres) eine Gefäßerweiterung nachzuweisen. In allen anderen Fällen bewirkten die ungekochten Extrakte Gefäßverengerungen.

Bei den Versuchen am überlebenden Darm zeigte sich deutlich der Unterschied in der Wirksamkeit frischer und älterer ungekochter Extrakte. Die Anfangswirkung war zunächst eine reine Hemmung der Peristaltik, wie sie bei den abgekochten Extrakten fast regelmäßig auftrat. Sonst entsprach die Wirkung der nicht abgekochten Extrakte nach etwa ½—1½ Stunden der Kurvenform des defibrinierten Blutes, d. h. nach kurzdauernder anfänglicher Hemmung der Peristaltik kam es zu einer hochgradigen Steigerung der Peristaltik und des Tonus. Verschieden lange Zeit nach dem Tode des Tieres ging dann die Hemmungswirkung ganz zurück und es blieb eine reine Erregung der Peristaltik und des Tonus bestehen.

Aus dieser ersten Versuchsreihe ergibt sich also zunächst die Bedeutung des Abkochens für die Beständigkeit der Frühwirkung, die also auf den Adenylsäuregehalt zurückgeführt werden kann, da in den ungekochten Extrakten die drei zur Kenntzeichnung der Adenylsäure

---

[10]) Freund: Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 1920, Bd. 86, S. 266.
[11]) Dittler: Z. f. Biol. 1918, Bd. 86, S. 223; Pflügers Arch. 1914, Bd. 157, S. 453.

dienenden Testreaktionen in kurzer Zeit verloren gehen. Statt dieser Frühgiftwirkung tritt das gleiche Wirkungsbild auf wie bei der Spätwirkung des defibrinierten Blutes, nämlich die Erregung des Darms und die Verengerung der Froschgefäße mit unsicheren oder geringfügigen Steigerungen des Blutdrucks am Kaninchen. Ebenso wenig wie für die Spätgiftwirkung des defibrinierten Blutes ist bei dem Muskelextrakt bekannt, welche chemische Substanz diese Wirkung verursacht. Obwohl manches im Wirkungsbilde für Histamin spricht, haben Untersuchungen Hülsmeyer's[12]) und Werdehausen's[13]) gezeigt, daß Histamin für die Spätgiftwirkung nicht verantwortlich zu machen ist.

2. Versuchsreihe.

Die zweite Versuchsreihe sollte die Frage klären, ob aus der Muskulatur bei einer Extraktionsmethode, bei der die Adenylsäure nicht mit in die Extrakte übergeht, andere pharmakologisch wirksame Stoffe gewonnen werden können. In einigen Vorversuchen mit Alkoholextraktion von frischer Muskulatur (der Alkohol wurde abgedampft und der Rückstand in physiologischer Kochsalzlösung aufgenommen) hatte sich gezeigt, daß eine blutdrucksenkende und darmerregende Substanz gewonnen werden kann. Diese Versuche waren der Ausgangspunkt für die folgenden, in denen die Extraktherstellung in folgender Weise vorgenommen wurde:

Die Organe wurden mit der 5-fachen Menge 96%igen Aethylalkohols 24 Stunden stehen gelassen, dann filtriert, der Alkohol abdestilliert und der Rückstand in Kochsalzlösung aufgenommen = Gesamtextrakt.

Ein weiterer Teil des Rückstandes wurde ausgeäthert und dann sowohl der Aetherrückstand wie der ätherlösliche Teil nach Abdunstung des Aethers in physiologischer Kochsalzlösung aufgenommen.

Entsprechend den Vorversuchen machten der Gesamtrückstand nach der Abdunstung des Alkohols Blutdrucksenkung und Darmerregung. Nach der Ausätherung eines Teiles des gleichen Rückstandes ergab der ätherunlösliche Anteil in Kochsalz aufgenommen wechselnde Ergebnisse am Blutdruck — Steigerung mit nachfolgender Senkung oder Senkung mit nachfolgender Steigerung und am Darm fast keine Wirkung. Der ätherlösliche Teil des Alkoholextraktes ergab nach Abdunstung des Aethers und Aufnahme in Kochsalzlösung gleichfalls keine deutlichen Befunde am Blutdruck, dafür aber eine sehr starke Erregung am Darm.

---

[12]) Hülsmeyer: Dissertation, Münster 1934.
[13]) Werdehausen: Inaugural-Dissertation, Münster 1933.

Diese Form der Verarbeitung ergab somit keine klare Möglichkeit der Fraktionierung. Die weiteren Versuche wurden deshalb in folgender Weise vorgenommen:

Die Organe wurden mit der 5-fachen Menge Aethylalkohol, dem nach dem Vorschlag von Euler u. Gaddum[14]) auf 1 Liter je 10 ccm N-Schwefelsäure zugesetzt war, 24 Std. stehen gelassen, dann filtriert und der Alkohol abdestilliert. Der Rückstand wurde mit Aether behandelt. Der im Aether unlösliche Teil wurde mit Wasser aufgenommen, mit Natriumbicarbonat neutralisiert, zum Trockenen eingedampft und der Trockenrückstand mit absolutem Alkohol extrahiert. Diese „alkoholischen Extrakte" wurden nach Abdunstung des Alkohols in physiologischer Kochsalzlösung aufgenommen. Der ätherlösliche Anteil wurde nach Abdampfung des Aethers mit Aceton aufgenommen. Nach Abdampfen des Acetons kamen diese „Acetonextrakte" in Kochsalzlösung zum Versuch. Der acetonunlösliche Teil der ätherlöslichen Fraktion wurde gleichfalls mit Kochsalzlösung aufgenommen = Aetherextrakt".

Bei dieser Trennungsmethode werden durch die Ansäuerung etwa wirksame Basen in ihre Salze übergeführt, die in Aether unlöslich sind. Die Aetherextraktion des Niederschlages entfernt Lipoide und Fette daraus, welche nach der Abdunstung des Aethers durch Acetonbehandlung getrennt werden können. Der ätherunlösliche Teil des mit dem sauren Alkohol hergestellten Extraktes wird dann in Wasser aufgenommen und durch Neutralisierung die Basen wieder freigemacht. Nach Eindampfung bis zur Trockene und Behandlung mit absolutem Alkohol bleiben die nur in Wasser löslichen Bestandteile zurück und in der alkoholischen Lösung sind praktisch als einzig wirksame Substanzen nur noch die basischen enthalten. Die in dieser Weise hergestellten Versuche ergaben nun ein klares und einheitliches Resultat: sowohl die Acetonextrakte als die Aetherextrakte waren wirkungslos. Dafür war in dem Alkoholextrakt sehr stark darmerregende und blutdrucksenkende Wirkstoffe enthalten. Es sei erwähnt, daß Mertens[15]) und Telges[16]), ersterer an Leberextrakten und letzterer an Milzextrakten die gleichen Erfahrungen machen konnten. Da die Wirkungen dieser Fraktionen nach Atropinisierung nicht mehr zustande kommen, so ist die wirksame Substanz als Acetylcholin anzusprechen.

---

[14]) Euler u. Gaddum: Journ. of Physiol. 1931, Bd. 72, S. 74.
[15]) Mertens: Inaugural-Dissertation, Münster, 1935.
[16]) Telges: ebenda.

Zusammenfassung:

1. Bei der Extraktion mit Kochsalzlösung geht aus der Muskulatur auschließlich Adenylsäure in Lösung, die beständig ist, wenn das sie abbauende Ferment durch Kochen zerstört wird. In der ungekochten Lösung verschwinden die für Adenylsäure kennzeichnenden Wirkungen und statt dessen treten Gefäßverengung und Darmerregung, die der Spätgiftwirkung des defibrinierten Blutes (F r e u n d) entsprechen, auf. Ihre chemische Grundlage ist nicht bekannt.

2. Bei der Behandlung frischer Muskulatur nach Euler und Gaddum läßt sich in den Extrakten Acetylcholin nachweisen. Anhaltspunkte für das Vorhandensein anderer wirksamer Stoffe haben die obigen Versuche nicht ergeben.

Lebenslauf.

Am 18. 4. 1911 wurde ich in Witten a./Ruhr als Sohn des Apothekers Ferd. Erdmann und seiner Ehefrau Hilda, geb. Doberg, geboren. Nach Besuch der Volksschule kam ich auf die Oberrealschule in Münster, wo ich 1930 meine Reifeprüfung bestand. Mein medizinisches Studium begann ich an der hiesigen Universität. Nachdem ich im Sommer 1932 meine ärztliche Vorprüfung bestanden habe, machte ich im Dezember 1935 hier mein Staatsexamen.